

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Abteilung für Neuropharmakologie

Vergleich der prä- und postsynaptischen
Wirkungen von antimuscarinartigen Sub-
stanzen am Meerschweinchendünndarm

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Barbara Wagner
aus Kassel

1980

Mainz 1979

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Abteilung für Neuropharmakologie

Vergleich der prä- und postsynaptischen
Wirkungen von antimuscarinartigen Sub-
stanzen am Meerschweinchendünndarm

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Barbara Wagner
aus Kassel

Mainz 1979



Dekan:	Professor Dr. H. Leithoff
1. Gutachter:	Professor Dr. H. Kilbinger
2. Gutachter:	Professor Dr. E. Muscholl

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Oktober 1980

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methode	
2.1 Freisetzungsversuche	
2.11 Präparation der Längsmuskelstreifen	5
2.12 Versuchsablauf	6
2.13 Ionenpaarextraktion und Gaschromatographie	7
2.2 Kontraktionsversuche	8
2.3 Statistische Methoden	9
2.4 Substanzen	11
3. Ergebnisse	
Einfluß antimuscarinartiger Substanzen auf die Acetylcholinfreisetzung sowie auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen am Meerschweinchendünndarmpräparat	
3.1 Vorversuche	12
3.2 Wirkung von Scopolamin	14
3.3 Wirkung von Trihexyphenidyl	17
3.4 Wirkung von Amitriptylin	18
3.5 Wirkung von Clozapin	24
3.6 Wirkung von Methylatropin	27
3.7 Wirkung von Chinuclidinylbenzilat (QNB)	30
3.8 Wirkung von Biperiden	30
4. Diskussion	
4.1 Klassifizierung von α -Rezeptoren im adrenergen System	36
4.11 Differenzierung zwischen prä- und postsynaptischen α -Rezeptoren	36
4.2 Klassifizierung von Muscarinrezeptoren im cholinergen System	37
4.21 Differenzierung zwischen peripheren und zentralen Muscarinrezeptoren	38

4.22 Differenzierung von Muscarinrezeptoren im Meerschweinchenileum	40
4.23 Differenzierung zwischen prä- und postsynaptischen Muscarinrezeptoren	41
4.3 Vergleich der prä- und postsynaptischen Wirksamkeiten der getesteten Antimuscarinika	42
5. Zusammenfassung	50
6. Literatur	53
Lebenslauf	56

1. Einleitung

An peripheren und zentralen noradrenergen Neuronen ist die Existenz von präsynaptischen α -Rezeptoren, die die Transmitterfreisetzung kontrollieren, schon seit längerem bekannt (Starke, 1977).

Die Aktivierung dieser Rezeptoren durch exogene Agonisten oder endogenes vorher freigesetztes Noradrenalin führt zu einer Hemmung der weiteren Freisetzung von Noradrenalin. Dabei ist der präsynaptische Rückkopplungsmechanismus unabhängig von postsynaptischen Zellen (Lit. bei Starke, 1977). Durch α -adrenolytische Substanzen wird der Regelkreis unterbrochen und so die Freisetzung gefördert (Farnebo und Hamburger, 1971; Kirpekar und Puig, 1971; Langer et al., 1971; Starke, 1971, 1977).

Vergleichbare Untersuchungen liegen im cholinergen System vor. Für die Existenz von präsynaptischen Muscarinrezeptoren in Cortex, Striatum und Hippocampus der Ratte fanden Szerb, Hadhazy und Dudar (1977) deutliche Hinweise. Die muscarinartigen Antagonisten Atropin, Chinuclidinylbenzilat (QNB) und Scopolamin steigerten die Acetylcholinfreisetzung aus Hirngewebe in dosisabhängiger Weise, wohingegen die Agonisten Oxotremorin, Carbaminoylcholin und Arecolin die Acetylcholinfreisetzung in dosisabhängiger Weise senkten.

Auch Bourdois et al. (1974) und Polak (1971) zeigten, daß die Acetylcholinfreisetzung aus Hirngewebe der Ratte in vitro durch Atropin gesteigert wird. Durch Methacholin oder Oxotremorin war dieser Effekt zu antagonisieren (Polak, 1971).

Szerb und Somogyi (1973) schlossen aus Ergebnissen ähnlicher Versuche mit Rattenhirngewebe ebenfalls auf die Existenz eines negativen Rückkopplungsmechanismus in zentralen cholinergen Neuronen. Sie erhöhten den Acetylcholingehalt im synaptischen Spalt durch Blockierung der Acetylcholinesterase. Dies führte zu einer Senkung der durch Feldreizung hervorgerufenen Acetylcholinfreisetzung; durch Atropin war dieser Effekt zu antagonisieren.

Von Kilbinger (1977) wurde ein solcher Mechanismus auch am Plexus myentericus des Meerschweinchenileums gefunden. Hier wurde die durch elektrische Reizung hervorgerufene Acetylcholinfreisetzung durch Oxotremorin in konzentrationsabhängiger Weise gesenkt. Durch Atropin konnte die Acetylcholinfreisetzung dosisabhängig gesteigert werden. Außerdem war Atropin in der Lage, den Effekt von Oxotremorin vollständig zu antagonisieren.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die inhibitorischen präsynaptischen Muscarinrezeptoren durch Atropin blockiert

werden; dies führt zu einer Unterbrechung des Regelkreises und damit zu einer Steigerung der Acetylcholinfreisetzung.

In der vorliegenden Arbeit sollen die Wirkungen von muscarinartigen Antagonisten an präsynaptischen und postsynaptischen Muscarinrezeptoren des Meerschweinchendünndarmes gegenübergestellt werden.

Der Effekt der Muscarinantagonisten auf die präsynaptischen Rezeptoren besteht in einer Entkopplung des negativen Rückkopplungsmechanismus und damit in einer Steigerung der Acetylcholinfreisetzung. Dies wurde durch Messung der Acetylcholin-konzentration nach monophasischer Reizung mit 0,3 Hz von jeweils 10 Minuten Dauer untersucht. Der Effekt auf die postsynaptischen Muscarinrezeptoren besteht in einer Hemmung der Kontraktion des Meerschweinchendünndarmes, der mit einer Frequenz von 0,1 Hz elektrisch gereizt wurde.

Die pharmakologische Klassifikation von Rezeptoren kann mit folgenden Methoden durchgeführt werden. Einmal lassen sich die relativen Wirksamkeiten einer Reihe von Agonisten oder Antagonisten auf verschiedene Gewebe miteinander vergleichen.

Eine zweite Möglichkeit der Rezeptorencharakterisierung ist die Bestimmung des pA_2 -Wertes eines kompetitiven Antagonisten

an mehreren Geweben (Furchtgott, 1972). Eine neuere Methode ist der Vergleich der Wirksamkeiten stereoisomerer Agonisten oder Antagonisten auf unterschiedliche Gewebe (Patil, 1969).

In der vorliegenden Untersuchung wurden die prä- und postsynaptischen Muscarinrezeptoren charakterisiert, indem die relativen Wirksamkeiten von sieben Antagonisten an prä- und postsynaptischen Muscarinrezeptoren miteinander verglichen wurden.

2. Methode

2.1 Freisetzungsversuche

2.11 Präparation der Längsmuskelstreifen

Meerschweinchen beiderlei Geschlechts wurden durch Genickschlag getötet und nach Eröffnen der Halsschlagader ausgeblutet. Die Bauchhöhle wurde sofort eröffnet, der gesamte Dünndarm herausgenommen und in Tyrodelösung gelegt. Ein ca. 20 cm langes Stück wurde jeweils über einen Glasstab von 5 mm Dicke gestreift. Dann wurde der Längsmuskelstreifen präpariert wie von Paton und Vizi (1969) beschrieben. Mit einem Skalpell wurde vorsichtig die äußere Längsmuskulatur der Länge nach zertrennt. Mit einem in Tyrode getauchten Wattebausch wurde diese sodann vorsichtig von der darunterliegenden Ringmuskelschicht abgetrennt. Diese so gewonnenen Gewebestreifen von 36 - 125 mg (Feuchtgewicht) wurden für die Freisetzungsversuche vierfach übereinandergelegt und mit Baumwollgarn zwischen zwei 3 cm von einander entfernte Reizelektroden gebunden und anschließend in ein Organbad mit 6 ml Tyrodelösung gehängt. (Zusammensetzung der Tyrode in mM: NaCl 137; KCl 2,7; CaCl_2 1,8; MgCl_2 1,0; NaH_2PO_4 0,4; NaHCO_3 11,9; Glukose 5,6) Das Organbad wurde mit einem Gemisch von 95 % O_2 und 5 % CO_2 begast und konstant bei einer

Temperatur von 37° C gehalten. Die Tyrodelösung enthielt während des Versuches Eserin in einer Konzentration von 10^{-5} M als Cholinesterasehemmstoff.

Während einer 30-minütigen Vorinkubationszeit wurde die Badflüssigkeit alle 5 Minuten mit vorgewärmter Tyrodelösung gewechselt.

2.12 Versuchsablauf

Die elektrische Reizung erfolgte wie von Paton und Vizi (1969) beschrieben. Die Längsmuskelstreifen wurden mit monophasischen Impulsen (1msec Impulsdauer) zwischen zwei Platinreizelektroden stimuliert. Die Reizdauer betrug jeweils 10 Minuten bei einer Reizfrequenz von 0,3 Hz. Es wurden pro Versuch zwei Reizperioden durchgeführt. Die durch die Reizung hervorgerufene Acetylcholinfreisetzung (S_1 , S_2) wurde ausgerechnet, indem die Acetylcholinfreisetzung in einer jeweils vorangehenden 10-minütigen Ruheperiode (R_1 , R_2) von der Gesamtfreisetzung während der Stimulationsperiode subtrahiert wurde. Bevor die zweite Ruhe- und Reizperiode begann, wurden die Gewebestreifen 20 Minuten mit der Tyrode, die das jeweilige Parasympatholytikum enthielt, vorinkubiert. Dabei wurde die Badflüssigkeit alle 5 Minuten gewechselt.

Nach Beendigung des Versuches wurden die Längsmuskelstreifen zwischen Filtrierpapier getrocknet und gewogen.

Die Acetylcholinfreisetzung war in den verschiedenen Versuchen unterschiedlich. Um die statistische Variation gering zu halten, wurde die Freisetzung der zweiten Ruhe- und Reizperiode zu der jeweils ersten ins Verhältnis gesetzt (R_2/R_1 , S_2/S_1).

2.13 Ionenpaarextraktion und Gaschromatographie

Das Acetylcholin wurde aus der Tyrodelösung durch Ionenpaarextraktion isoliert (Karlén et al., 1974) und durch Gaschromatographie quantitativ bestimmt (Kilbinger, 1973).

Die Proben wurden in 50 ml Zentrifugengläsern mit Glasstopfen aufgefangen, die als inneren Standard Propionylcholin (0,5 - 3 nmol) enthielten. Die Cholinester wurden durch 5-minütiges Ausschütteln mit 5 ml einer Lösung von 1mM Dipikrylamin in Dichlormethan in die organische Phase überführt. Nach Zentrifugieren wurde die organische Phase in ein 20 ml Zentrifugenglas pipettiert und mit Preßluft auf ein Volumen von ca. 1 ml reduziert. Dann wurde 1 Minute mit eiskaltem Carbonatpuffer (pH9) gewaschen, um das übrige

Dipikrylamin zu entfernen. Die Proben wurden erneut zentrifugiert und die organische Phase in 1 ml Reagenzgläschen mit Teflonstopfen gefüllt. Nun wurden sie mit Preßluft ganz trockengeblasen. Anschließend wurden die Gläschen im Exsikkator 30 Minuten über P_2O_5 getrocknet.

Die weitere Aufarbeitung der Proben und die gaschromatographische Bestimmung des Acetylcholin erfolgten nach der von Kilbinger (1973) beschriebenen Methode.

Die Menge des freigesetzten Acetylcholin wurde in der vorliegenden Arbeit als $\text{pmol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ ausgedrückt.

2.2 Kontraktionsversuche

Die Längsmuskelstreifen wurden auf die gleiche Weise gewonnen wie oben beschrieben. Zur Messung der Kontraktion wurde aber jeweils nur ein einzelner Gewebestreifen in das Organbad gehängt. Die Tyrodelösung hatte die gleiche Zusammensetzung, enthielt aber in dieser Versuchsreihe kein Eserin.

Die Längsmuskelstreifen wurden mit einem isometrisch registrierenden Dehnungsmeßstreifen-Aufnehmer unter einer

Vorspannung von 0,8 g verbunden. Während einer 30-minütigen Vorinkubationsperiode wurde die Spannung kontrolliert. Dann wurde 60 Minuten mit 0,1 Hz gereizt, bis die Kontraktion, die auf einem Schreiber (Hellige) aufgezeichnet wurde, konstant blieb.

Es wurden für jede Substanz kumulative Dosiswirkungskurven aufgezeichnet, indem alle 30 Minuten die Konzentration der antimuscarinartigen Substanz in der Badflüssigkeit um den Faktor ~ 3 erhöht wurde. Die Hemmung der Kontraktion wurde an der Verringerung der Amplitude abgelesen und in % des Kontrollwertes vor Zugabe der Substanz angegeben. In jedem Einzelversuch wurde diejenige Konzentration bestimmt, die eine 50 %ige Hemmung der Darmkontraktion bewirkte (ED_{50}). In Kontrollversuchen wurde gefunden, daß die Kontraktionshöhe des mit 0,1 Hz kontinuierlich gereizten Präparates während 4 Stunden konstant blieb (Tabelle 1).

2.3 Statistische Methoden

Die Resultate sind als Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der jeweiligen Anzahl von Versuchen angegeben. Um die Signifikanz der Unterschiede der Mittelwerte zu bestimmen, wurde der Student's t-Test verwendet.

Tabelle 1: Längsmuskelstreifen mit anhängendem Auerbachschem Plexus wurden während 240 Minuten kontinuierlich mit einer Frequenz von 0,1 Hz elektrisch gereizt. Die Badflüssigkeit wurde alle 30 Minuten gewechselt. Angegeben sind die Veränderungen der Kontraktionshöhe am Ende jeder 30-minütigen Periode in % des Kontrollwertes vor Versuchsbeginn. Die Spannungsentwicklung pro Muskelstreifen vor Versuchsbeginn betrug $1,09 \pm 0,11$ g. N = 14.

Inkubationszeit (min)	Kontraktionshöhe in % des Ausgangswertes
0 - 30	99 ± 1
30 - 60	100 ± 2
60 - 90	103 ± 2
90 - 120	102 ± 4
120 - 150	100 ± 3
150 - 180	100 ± 4
180 - 210	98 ± 6
210 - 240	102 ± 8

2.4 Substanzen

- Amitriptylinhydrochlorid, Sharp & Dohme GmbH, München
- Biperidenhydrochlorid, Knoll, Ludwigshafen
- Clozapin Base, Sandoz AG, Basel
- Eserinsulfat, Boehringer & Sohn, Ingelheim
- N-Methylatropiniumbromid, E. Merck, Darmstadt
- Oxotremorinsesquifumarat, EGA Chemie
- QNB Base, CIBA, Basel
- Scopolaminhydrobromid, E. Merck, Darmstadt
- Trihexyphenidylhydrochlorid, Lederle Cyanamid GmbH, München

3. Ergebnisse

Einfluß antimuscarinartiger Substanzen auf die Acetylcholin- freisetzung sowie auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen am Meerschweinchendünndarmpräparat

3.1 Vorversuche

In einer Reihe von Vorversuchen wurde ermittelt, bei welchen Reizbedingungen die Freisetzung von Acetylcholin bzw. die Kontraktion der Längsmuskelstreifen maximal war. Nach einer 30-minütigen Vorinkubationsperiode mit eserinhaltiger Tyrodelösung wurde während 10 Minuten die Ruhefreisetzung gemessen. Anschließend wurden die Längsmuskelstreifen in 5-minütigen Abständen mit monophasischen Impulsen jeweils 1 Minute mit 3 Hz (1 msec) und steigender Stromstärke gereizt. Der Spannungsabfall zwischen den Elektroden wurde mit einem Oszillographen registriert. Bei einem Spannungsabfall von 15 V/cm war ein Maximum der Acetylcholinfreisetzung erreicht (Tabelle 2).

Eine maximale Kontraktion der Längsmuskelstreifen bei einer Reizung mit 0,1 Hz (1msec) war bereits bei einem Spannungsabfall im Bad von 9 V/cm zu messen.

In allen folgenden Versuchen wurden die Längsmuskelstreifen so gereizt, daß der Spannungsabfall bei den Freisetzungsversuchen 15 V/cm und bei den Kontraktionsversuchen 9 V/cm betrug.

Tabelle 2: Einfluß der Reizspannung auf die Acetylcholinfreisetzung bei monophasischer Reizung mit 3 Hz und 1 Minute Dauer

Die maximale Freisetzung in jeder einzelnen Versuchsreihe wurde gleich 100 % gesetzt. Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler der Mittelwerte aus 4 Versuchen.

Spannungsabfall (V/cm)	Acetylcholinfreisetzung	
	($\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$)	(%)
5	507 $\pm$ 175	14 $\pm$ 2
7,5	1610 $\pm$ 560	41 $\pm$ 8
10	2459 $\pm$ 464	68 $\pm$ 2
12,5	3202 $\pm$ 799	88 $\pm$ 2
15	3447 $\pm$ 1069	91 $\pm$ 2
17,5	2772 $\pm$ 714	76 $\pm$ 8

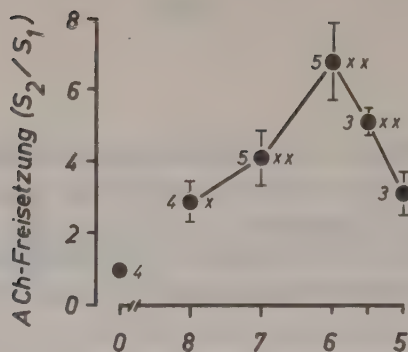
3.2 Wirkung von Scopolamin

Die Wirkung von Scopolamin auf die präsynaptischen Muscarinrezeptoren ist in Tabelle 3A und Abbildung 1A dargestellt.

Bereits bei einer Konzentration von 10^{-8} M Scopolamin wurde eine signifikante ($p \leq 0,05$) Steigerung der Acetylcholinfreisetzung gemessen ($S_2/S_1 = 2,39 \pm 0,55$; $N=4$). Im Vergleich dazu blieb in den Kontrollversuchen die Acetylcholinfreisetzung konstant ($S_2/S_1 = 0,98 \pm 0,11$; $N=4$). Das Maximum der Wirksamkeit war bei einer Konzentration von 10^{-6} M Scopolamin erreicht ($S_2/S_1 = 6,61 \pm 1,19$; $N=5$). Bei höheren Scopolaminkonzentrationen von 3×10^{-6} M bzw. 10^{-5} M stieg auch die Ruhefreisetzung deutlich an ($R_2/R_1 = 2,07 \pm 0,25$; $N=3$ bzw. $R_2/R_1 = 1,68 \pm 0,47$; $N=3$). Der erste Wert war von den Kontrollen ($R_2/R_1 = 0,7 \pm 0,13$; $N=4$) signifikant verschieden ($p < 0,01$). Für den Effekt auf die Acetylcholinausschüttung wurde für Scopolamin eine ED_{50} von $7,08 \times 10^{-8}$ M ermittelt.

Die Scopolaminwirkung auf die postsynaptischen Muscarinrezeptoren zeigt Tabelle 3B und Abbildung 1B. Eine Hemmung der Kontraktion zeigte sich bereits bei einer Konzentration von 10^{-9} M Scopolamin, wobei die Kontraktionsamplitude auf $49 \pm 6,5$ % des Ausgangswertes zurückging. Aus den vier durchgeführten Versuchen ließ sich eine ED_{50} von $9,28 \pm 0,93 \times 10^{-10}$ M errechnen.

(A)



(B)

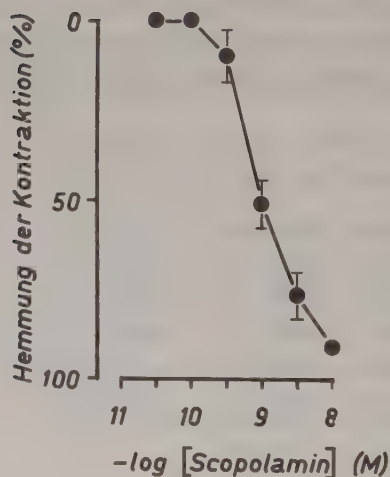


Abbildung 1 (A): Steigerung der Acetylcholinfreisetzung durch Scopolamin. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinfreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von Scopolamin. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Scopolaminkonzentration. Jeder Punkt zeigt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der angegebenen Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$, xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch Scopolamin. Ordinate: Kontraktionshemmung in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Scopolaminkonzentration. Die Punkte stellen jeweils den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes dar. $N = 4$.

3.3 Wirkung von Trihexyphenidyl

Tabelle 4A und Abbildung 2A zeigen die Wirkung von Trihexyphenidyl auf die Acetylcholinfreisetzung.

Diese wurde schon durch eine Konzentration von 10^{-9} M Trihexyphenidyl signifikant ($p < 0,05$) erhöht ($S_2/S_1 = 2,11 \pm 0,43$; $N=3$). Der Vergleichswert aus den Kontrollversuchen lag bei $S_2/S_1 = 0,89 \pm 0,05$ ($N=4$). Die maximale Steigerung der durch elektrische Stimulation hervorgerufenen Acetylcholinfreisetzung zeigte sich bei 10^{-5} M Trihexyphenidyl ($S_2/S_1 = 6,25 \pm 0,91$; $N=4$).

Die ED_{50} für den Effekt auf die Acetylcholinfreisetzung hatte einen Wert von $2,51 \times 10^{-7}$ M.

Um zu prüfen, ob die Freisetzungssteigerung durch Trihexyphenidyl ein spezifischer, d.h. durch Blockade inhibitorischer Muscarinrezeptoren vermittelter Effekt ist, wurde die Acetylcholinfreisetzung in Gegenwart von Trihexyphenidyl plus Oxotremorin untersucht. Oxotremorin ist ein Agonist an den inhibitorischen Muscarinrezeptoren des Plexus myentericus (Kilbinger, 1977) und sollte daher den Effekt von Trihexyphenidyl aufheben. Die maximale Steigerung der Acetylcholin-

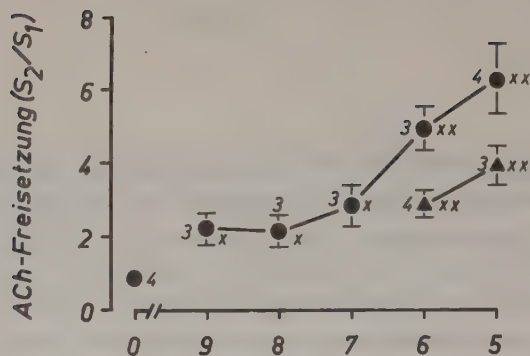
freisetzung, die bei einer Konzentration von 10^{-5} M Trihexyphenidyl mit einem Wert für S_2/S_1 von $6,25 \pm 0,91$ ($N=4$) erreicht war, war durch 10^{-4} M Oxotremorin nicht signifikant ($P < 0,1$) zu hemmen ($S_2/S_1 = 3,87 \pm 0,54$; $N=3$). Dagegen wurde die Acetylcholinfreisetzung in Gegenwart von 10^{-5} M Trihexyphenidyl ($S_2/S_1 = 4,86 \pm 0,61$; $N=3$) mit 10^{-4} M Oxotremorin signifikant ($P < 0,05$) erniedrigt ($S_2/S_1 = 2,83 \pm 0,37$; $N=4$). Diese Freisetungsverhältnisse waren aber immer noch signifikant gesteigert (jeweils $p < 0,01$) gegenüber den Kontrollwerten.

Der Effekt von Trihexyphenidyl auf die Kontraktion läßt sich aus Tabelle 4B und Abbildung 2B ablesen. Die Versuche zeigten einen Rückgang der Amplitude auf 93 ± 2 % des Ausgangswertes bei einer Konzentration von 3×10^{-9} M Trihexyphenidyl. Aus den sechs Versuchen ließ sich eine ED_{50} von $4,53 \pm 0,21 \times 10^{-8}$ M berechnen.

3.4 Wirkung von Amitriptylin

Die Wirkung auf die Regulation der Acetylcholinfreisetzung ist in Tabelle 5A und Abbildung 3A wiedergegeben.

(A)



(B)

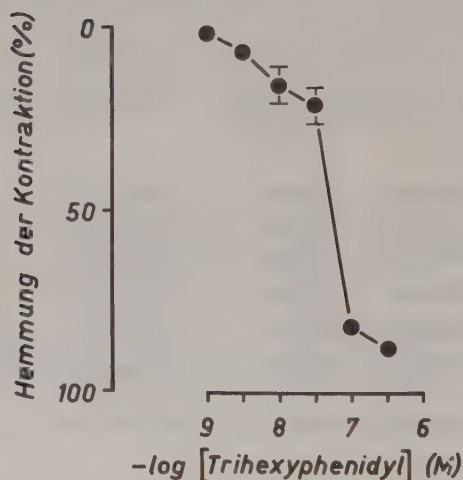


Abbildung 2 (A): Steigerung der Acetylcholinfreisetzung durch Trihexyphenidyl und Hemmung dieses Effektes durch Oxotremorin. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinfreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von Trihexyphenidyl (●—●) bzw. Trihexyphenidyl plus 10^{-4} M Oxotremorin (▲—▲). Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Trihexyphenidylkonzentration. Die Punkte stellen den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der jeweils angegebenen Anzahl von Versuchen dar. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$, xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch Trihexyphenidyl. Ordinate: Kontraktionshemmung in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Trihexyphenidylkonzentration. Jeder Punkt stellt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes von jeweils sechs Versuchen dar.

Die Acetylcholinfreisetzung wurde durch Amitriptylin schon bei einer Konzentration von 10^{-7} M gesteigert ($S_2/S_1 = 1,78 \pm 0,39$; $N=4$), jedoch war dieser Wert nicht signifikant ($p < 0,1$) verschieden von den Kontrollversuchen ($S_2/S_1 = 0,95 \pm 0,07$; $N=4$). Mit einer Konzentration von 10^{-6} M wurde eine signifikante Erhöhung ($p < 0,02$) der Freisetzung gemessen ($S_2/S_1 = 3,48 \pm 0,70$; $N=5$). Das Maximum war bei 10^{-5} M erreicht und lag bei einem Wert von $S_2/S_1 = 5,84 \pm 0,93$; $N=5$. Die ED_{50} wurde mit $8,91 \times 10^{-7}$ M ermittelt.

Bei höheren Amitriptylinkonzentrationen von 10^{-5} M bzw. 3×10^{-5} M fiel die Ruhefreisetzung ab ($R_2/R_1 = 0,59 \pm 0,17$; $N=5$ bzw. $R_2/R_1 = 0,47 \pm 0,10$; $N=3$) im Vergleich zu den Kontrollen ($R_2/R_1 = 0,86 \pm 0,09$; $N=4$). Diese Differenz war jedoch nicht signifikant ($p < 0,1$).

Die spezifische Wirkung von Amitriptylin auf inhibitorische Muscarinrezeptoren wurde in Gegenwart von Oxotremorin überprüft. Die maximale Freisetzungsteigerung, die bei einer Konzentration von 10^{-5} M Amitriptylin erreicht war ($S_2/S_1 = 5,84 \pm 0,93$; $N=5$), war durch 10^{-4} M Oxotremorin signifikant ($p < 0,02$) zu hemmen, jedoch lag der Wert ($S_2/S_1 = 2,25 \pm 0,32$; $N=4$) noch signifikant ($p < 0,01$) über dem Kontrollwert.

Tabelle 5B und Abbildung 3B zeigen die Änderung der Kontraktion mit steigender Amitriptylinkonzentration. Die Ver-

Tabelle 5A: Einfluß von Amitriptylin auf die Acetylcholinfreisetzung. Von 20 - 60 Minuten war Amitriptylin (AMT) bzw. Amitriptylin plus Oxotremorin (AMT+OT) zugesetzt. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes für die jeweils angezeigte Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$. Signifikanz der Differenz zwischen den AMT- und AMT+OT-Versuchen: oo: $p < 0,01$. (Weitere Einzelheiten siehe Tabelle 3A)

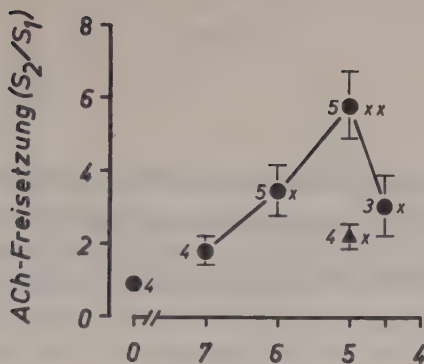
M	R_1 ($\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1}$)	S_1 ($\times \text{min}^{-1}$)	R_2/R_1	S_2/S_1	N
Kontrolle	245 $\pm$ 11	600 $\pm$ 213	0,86 $\pm$ 0,09	0,95 $\pm$ 0,07	4
AMT 10^{-7}	140 $\pm$ 23	261 $\pm$ 42	1,00 $\pm$ 0,11	1,78 $\pm$ 0,39	4
AMT 10^{-6}	203 $\pm$ 43	346 $\pm$ 82	0,84 $\pm$ 0,16	3,48 $\pm$ 0,70 x	5
AMT 10^{-5}	264 $\pm$ 48	382 $\pm$ 108	0,59 $\pm$ 0,17	5,84 $\pm$ 0,93 xx	5
AMT 3×10^{-5}	132 $\pm$ 36	213 $\pm$ 17	0,47 $\pm$ 0,10	3,06 $\pm$ 0,84 x	3
AMT 10^{-5} +OT 10^{-4}	253 $\pm$ 69	212 $\pm$ 54	0,99 $\pm$ 0,03	2,25 $\pm$ 0,32 x oo	4
	211 $\pm$ 20	343 $\pm$ 48			25

Tabelle 5B: Einfluß von Amitriptylin auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. N = 6.

Amitriptylin(M)	10^{-9}	3×10^{-9}	10^{-8}	3×10^{-8}	10^{-7}	3×10^{-7}	10^{-6}
Kontraktionshöhe 100	98 $\pm$ 2	89 $\pm$ 2,5	72 $\pm$ 2	32 $\pm$ 8	15 $\pm$ 1,3	6 $\pm$ 0,8	

(% des Kontrollwertes vor Zugabe von Amitriptylin)

(A)



(B)

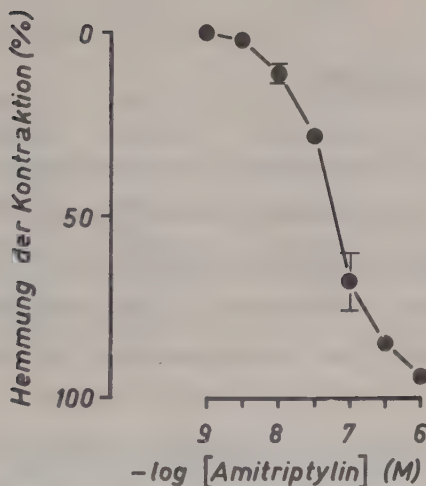


Abbildung 3 (A): Steigerung der Acetylcholinfreisetzung durch Amitriptylin und Hemmung dieses Effektes durch Oxotremorin. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinfreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von Amitriptylin (●—●) bzw. Amitriptylin plus Oxotremorin 10^{-4} M (▲). Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Amitriptylinkonzentration. Jeder Punkt stellt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der angegebenen Zahl von Versuchen dar. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch Amitriptylin in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Amitriptylinkonzentration. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes von 6 Versuchen.

suche zeigten einen Rückgang auf $89 \pm 2,5 \%$ des Ausgangswertes bei einer Amitriptylinkonzentration von 10^{-8} M. Aus den sechs durchgeführten Meßreihen ließ sich eine ED_{50} von $5,61 \pm 0,34 \times 10^{-6}$ M ablesen.

3.5 Wirkung von Clozapin

Im Rahmen dieser Versuchsreihe nimmt Clozapin eine Sonderstellung ein, in der Weise, daß die Effekte auf die Acetylcholinfreisetzung wesentlich geringer sind als bei allen anderen untersuchten Substanzen. In Abbildung 4A fällt der sehr flache Verlauf der Konzentrations-Freisetzungscurve auf. Die Ergebnisse der Versuche sind im einzelnen in Tabelle 6A dargestellt. Der Wert der maximalen Freisetzungssteigerung wurde bei einer Konzentration von 10^{-6} M Clozapin gemessen ($S_2/S_1 = 2,93 \pm 0,35$; $N=5$) und war von den Kontrollwerten ($S_2/S_1 = 1,02 \pm 0,05$; $N=4$) signifikant verschieden ($p < 0,01$). Die ED_{50} betrug $1,68 \times 10^{-7}$ M.

Das Ergebnis der Kontraktionsversuche geht aus Tabelle 6B und Abbildung 4B hervor. Mit 10^{-8} M Clozapin ging die Kontraktion auf $92 \pm 1 \%$ des Ausgangswertes zurück. Die ED_{50} betrug $5,75 \pm 0,36 \times 10^{-8}$ M.

Tabelle 6A: Einfluß von Clozapin auf die Acetylcholinfreisetzung. Von 20 - 60 Minuten war Clozapin (Cloz) zugesetzt. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes für die jeweils angezeigte Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,02$; xx: $p < 0,01$. (Weitere Einzelheiten siehe Tabelle 3A)

M	R_1 (pmol $\times$ g $^{-1}$	S_1 $\times$ min $^{-1}$)	R_2/R_1	S_2/S_1	N
Kontrolle	298 $\pm$ 43	342 $\pm$ 78	0,85 $\pm$ 0,09	1,02 $\pm$ 0,05	4
Cloz 10 $^{-9}$	276 $\pm$ 60	306 $\pm$ 32	0,97 $\pm$ 0,03	0,97 $\pm$ 0,12	4
Cloz 10 $^{-8}$	217 $\pm$ 45	321 $\pm$ 42	0,87 $\pm$ 0,05	1,30 $\pm$ 0,30	4
Cloz 10 $^{-7}$	289 $\pm$ 54	259 $\pm$ 52	0,66 $\pm$ 0,07	1,70 $\pm$ 0,19 x	5
Cloz 10 $^{-6}$	273 $\pm$ 31	338 $\pm$ 66	0,80 $\pm$ 0,17	2,93 $\pm$ 0,35 xx	5
Cloz 10 $^{-5}$	241 $\pm$ 73	317 $\pm$ 135	0,68 $\pm$ 0,12	2,36 $\pm$ 0,15 xx	3
	261 $\pm$ 19	317 $\pm$ 25			25

Tabelle 6B: Einfluß von Clozapin auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. N = 3.

Clozapin(M)	10 $^{-9}$	3 $\times$ 10 $^{-9}$	10 $^{-8}$	3 $\times$ 10 $^{-8}$	10 $^{-7}$	3 $\times$ 10 $^{-7}$	10 $^{-6}$	3 $\times$ 10 $^{-6}$
Kontraktionshöhe	100	100	92 $\pm$ 1	83 $\pm$ 2	34 $\pm$ 1,3	24 $\pm$ 2,3	18 $\pm$ 1,7	15 $\pm$ 2

(% des Kontrollwertes vor Zugabe von Clozapin)

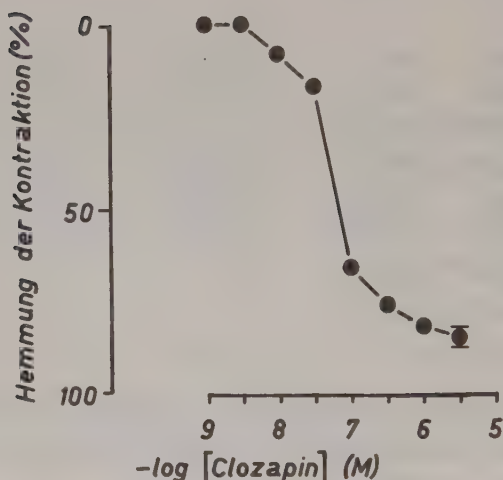
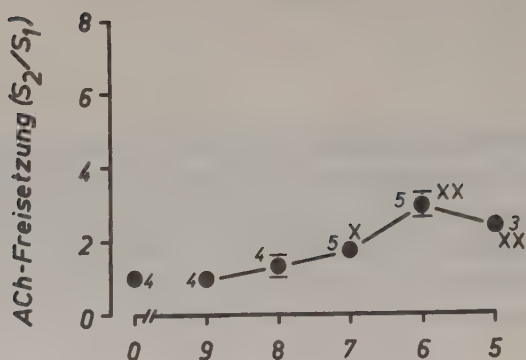


Abbildung 4 (A): Steigerung der Acetylcholinfreisetzung durch Clozapin. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinfreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von Clozapin. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Clozapinkonzentration. Jeder Punkt stellt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der jeweils angegebenen Zahl von Versuchen dar. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch Clozapin. Ordinate: Kontraktionshemmung in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Clozapinkonzentration. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes von 3 Versuchen.

3.6 Wirkung von Methylatropin

Die Effekte von Methylatropin auf die Ausschüttung von Acetylcholin sind in Tabelle 7A und Abbildung 5A dargestellt.

Die Acetylcholinfreisetzung wurde bei einer Methylatropin-konzentration von 10^{-8} M signifikant ($p < 0,02$) gesteigert ($S_2/S_1 = 1,85 \pm 0,14$; $N=4$), im Vergleich zu den Werten, die bei den Kontrollversuchen gemessen wurden ($S_2/S_1 = 1,18 \pm 0,12$; $N=4$). Das Maximum der Freisetzungssteigerung wurde bei einer Konzentration von 10^{-6} M Methylatropin registriert ($S_2/S_1 = 6,48 \pm 1,20$; $N=6$). Der ED_{50} Wert lag bei einer Konzentration von $5,30 \times 10^{-8}$ M.

Aus Tabelle 7B und Abbildung 5B ist die Wirkung auf die postsynaptischen Muscarinrezeptoren in der Änderung der Kontraktion abzulesen. In den Versuchen war bereits bei einer Konzentration von 10^{-10} M Methylatropin eine Hemmung der Kontraktionsamplitude auf 85 ± 6 % des Ausgangswertes festzustellen. Vier Versuche wurden durchgeführt, und aus den Kurven ließ sich eine ED_{50} von $4,37 \pm 0,56 \times 10^{-10}$ M ableiten.

Tabelle 7A: Einfluß von Methylatropin auf die Acetylcholinfreisetzung. Von 20 - 60 Minuten war Methylatropin (MAtr) zugesetzt. Angegeben ist jeweils der Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der angezeigten Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$. (Weitere Einzelheiten siehe Tabelle 3A)

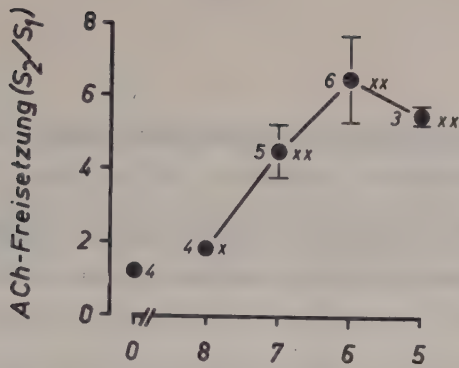
M	R_1 ($\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$)	S_1	R_2/R_1	S_2/S_1	N
Kontrolle	172 $\pm$ 34	276 $\pm$ 48	1,02 $\pm$ 0,10	1,18 $\pm$ 0,12	4
MAtr 10^{-8}	238 $\pm$ 100	317 $\pm$ 121	0,85 $\pm$ 0,29	1,85 $\pm$ 0,14 x	4
MAtr 10^{-7}	175 $\pm$ 37	397 $\pm$ 152	1,08 $\pm$ 0,14	4,48 $\pm$ 0,69 xx	5
MAtr 10^{-6}	243 $\pm$ 61	225 $\pm$ 50	1,04 $\pm$ 0,16	6,48 $\pm$ 1,20 xx	6
MAtr 10^{-5}	170 $\pm$ 54	297 $\pm$ 33	1,73 $\pm$ 0,66	5,51 $\pm$ 0,26 xx	3
	200 $\pm$ 28	300 $\pm$ 42			22

Tabelle 7B: Einfluß von Methylatropin auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. N = 4.

Methylatropin(M)	10^{-10}	3×10^{-10}	10^{-9}	3×10^{-9}	10^{-8}	3×10^{-8}
Kontraktion	85 $\pm$ 6	60 $\pm$ 2,4	35 $\pm$ 7,4	22 $\pm$ 5,4	15 $\pm$ 2	11 $\pm$ 1

(% des Kontrollwertes vor Zugabe von Methylatropin)

(A)



(B)

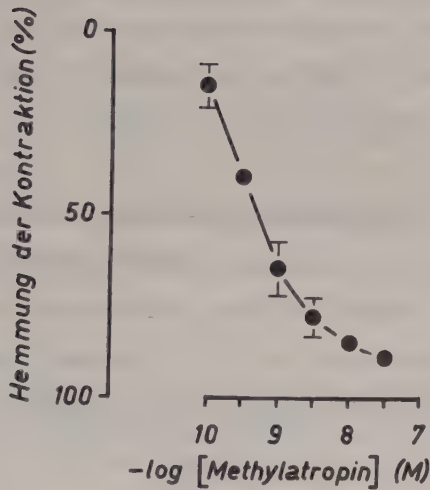


Abbildung 5 (A): Steigerung der Acetylcholinefreisetzung durch Methylatropin. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinefreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von Methylatropin. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Methylatropinkonzentration. Jeder Punkt zeigt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der jeweils angegebenen Anzahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion durch Methylatropin. Ordinate: Kontraktionshemmung in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Methylatropinkonzentration. Die Punkte stellen jeweils den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes dar. $N = 4$.

3.7 Wirkung von Chinuclidinylbenzilat (QNB)

Tabelle 8A und Abbildung 6A zeigen die Wirkungen von QNB auf der präsynaptischen Seite. QNB steigerte die Acetylcholinfreisetzung signifikant ($p < 0,01$) bei einer Konzentration von 10^{-8} M ($S_2/S_1 = 3,96 \pm 0,64$; $N=3$). In den Kontrollversuchen blieb die Acetylcholinfreisetzung konstant ($S_2/S_1 = 1,18 \pm 0,12$; $N=4$). Der maximale Effekt war bei einer Konzentration von 10^{-7} M QNB zu beobachten ($S_2/S_1 = 6,24 \pm 0,72$; $N=4$). Die ED_{50} lag bei $7,50 \times 10^{-9}$ M.

In Tabelle 8B und Abbildung 6B ist der Effekt des Muscarin-antagonisten auf die postsynaptischen Rezeptoren dargestellt. Die Kontraktion ging in den vier durchgeführten Versuchen bei einer Konzentration von 3×10^{-11} M QNB auf 79 ± 6 % des Ausgangswertes zurück. Die ED_{50} lag bei einem Wert von $3,29 \pm 0,90 \times 10^{-10}$ M.

3.8 Wirkung von Biperiden

Die Wirkung von Biperiden auf die Transmitterausschüttung geht aus Tabelle 9A und Abbildung 7A hervor. Durch eine Konzentration von 10^{-8} M Biperiden war die Acetylcholinfreisetzung

Tabelle 8A: Einfluß von QNB auf die Acetylcholinfreisetzung. Von 20 - 60 Minuten war QNB zugesetzt. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der jeweils angezeigten Anzahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: xx: $p < 0,01$. (Weitere Einzelheiten siehe Tabelle 3A)

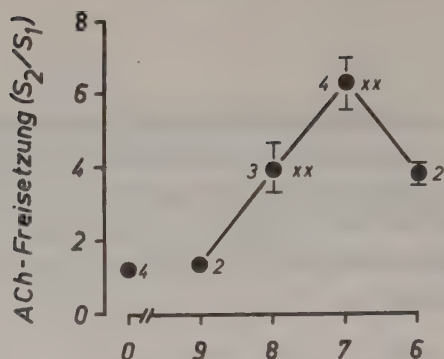
M	R_1 ($\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$)	S_1 ($\mu\text{mol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$)	R_2/R_1	S_2/S_1	N
Kontrolle	172 $\pm$ 34	276 $\pm$ 48	1,02 $\pm$ 0,10	1,18 $\pm$ 0,12	4
QNB 10^{-9}	271 $\pm$ 23	358 $\pm$ 145	0,95 $\pm$ 0,07	1,35 $\pm$ 0,02	2
QNB 10^{-8}	264 $\pm$ 15	265 $\pm$ 61	0,99 $\pm$ 0,05	3,96 $\pm$ 0,64 xx	3
QNB 10^{-7}	198 $\pm$ 33	272 $\pm$ 37	1,01 $\pm$ 0,02	6,24 $\pm$ 0,72 xx	4
QNB 10^{-6}	150 $\pm$ 7	253 $\pm$ 53	0,80 $\pm$ 0,20	3,76 $\pm$ 0,30	2
	208 $\pm$ 18	267 $\pm$ 25			15

Tabelle 8B: Einfluß von QNB auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. N = 4.

QNB (M)	10^{-11}	3×10^{-11}	10^{-10}	3×10^{-10}	10^{-9}	3×10^{-9}	10^{-8}
Kontraktion	96 $\pm$ 2	79 $\pm$ 6	69 $\pm$ 5	57 $\pm$ 5	37 $\pm$ 5	13 $\pm$ 4	10 $\pm$ 4

(% des Kontrollwertes vor Zugabe von QNB)

(A)



(B)

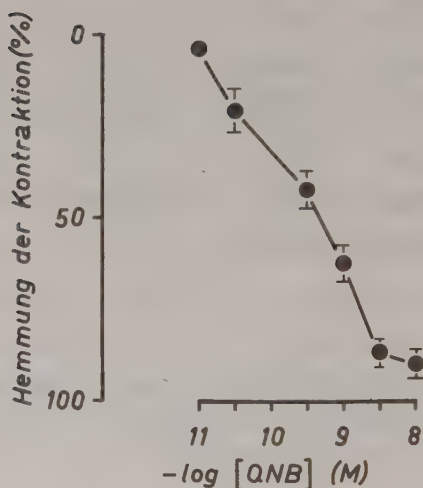


Abbildung 6 (A): Steigerung der Acetylcholinfreisetzung durch QNB. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinfreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von QNB. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren QNB-Konzentration. Jeder Punkt zeigt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der angegebenen Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch QNB. Ordinate: Hemmung der Kontraktion in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren QNB-Konzentration. Die Punkte stellen jeweils den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes von 4 Versuchen dar.

bereits signifikant ($p < 0,05$) gesteigert ($S_2/S_1 = 2,26 \pm 0,41$; $N=5$) im Vergleich zu den durchgeführten Kontrollversuchen, wo die Acetylcholinfreisetzung konstant blieb ($S_2/S_1 = 1,09 \pm 0,12$; $N=4$). Bei einer Konzentration von 10^{-6} M Biperiden war die Freisetzungssteigerung am größten ($S_2/S_1 = 5,55 \pm 0,97$; $N=6$). Die Ruhefreisetzung wurde durch eine Biperidenkonzentration von 10^{-5} M deutlich erniedrigt ($R_2/R_1 = 0,49 \pm 0,01$; $N=5$) im Vergleich zu den Kontrollen ($R_2/R_1 = 0,91 \pm 0,15$; $N=4$); jedoch war die Änderung nicht signifikant ($p > 0,05$). Die ED_{50} lag bei $7,94 \times 10^{-8}$ M.

Es wurden sechs Kontraktionsversuche durchgeführt, deren Ergebnisse aus Tabelle 98 und Abbildung 78 abzulesen sind. Bei einer Konzentration von 3×10^{-10} M Biperiden ging die Kontraktion auf 92 ± 1 % des Ausgangswertes zurück. Aus den sechs Kurven war eine ED_{50} von $6,04 \pm 1,02 \times 10^{-9}$ M zu berechnen.

Tabelle 9A: Einfluß von Biperiden auf die Acetylcholinfreisetzung. Von 20 - 60 Minuten war Biperiden (BIP) zugesetzt. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der jeweils angezeigten Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$. (Weitere Einzelheiten siehe Tabelle 3A)

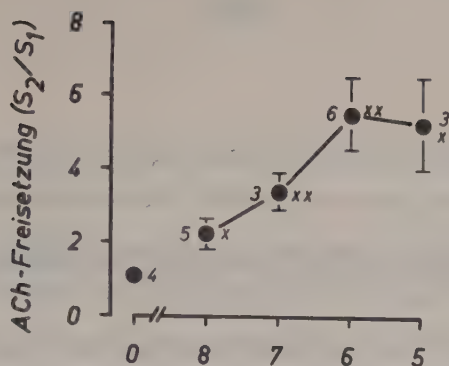
M	R_1 (pmol $\times$ g $^{-1}$ $\times$ min $^{-1}$)	S_1 $\times$ min $^{-1}$	R_2/R_1	S_2/S_1	N
Kontrolle	193 $\pm$ 28	278 $\pm$ 46	0,91 $\pm$ 0,15	1,09 $\pm$ 0,12	4
BIP 10 $^{-8}$	206 $\pm$ 44	146 $\pm$ 29	0,75 $\pm$ 0,06	2,26 $\pm$ 0,41 x	5
BIP 10 $^{-7}$	175 $\pm$ 28	129 $\pm$ 35	0,75 $\pm$ 0,13	3,38 $\pm$ 0,48 xx	3
BIP 10 $^{-6}$	189 $\pm$ 27	186 $\pm$ 33	0,95 $\pm$ 0,09	5,55 $\pm$ 0,97 xx	6
BIP 10 $^{-5}$	258 $\pm$ 20	198 $\pm$ 27	0,49 $\pm$ 0,01	5,28 $\pm$ 1,29 x	3
	202 $\pm$ 15	188 $\pm$ 18			21

Tabelle 9B: Einfluß von Biperiden auf die Kontraktion der Längsmuskelstreifen. Angegeben sind jeweils die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. N = 6.

Biperiden (M)	10 $^{-10}$	3 $\times$ 10 $^{-10}$	10 $^{-9}$	3 $\times$ 10 $^{-9}$	10 $^{-8}$	3 $\times$ 10 $^{-8}$	10 $^{-7}$
Kontraktion	100	92 $\pm$ 1	79 $\pm$ 5	63 $\pm$ 6	45 $\pm$ 4	22 $\pm$ 4	10 $\pm$ 0,3

(% des Kontrollwertes vor Zugabe von Biperiden)

(A)



(B)

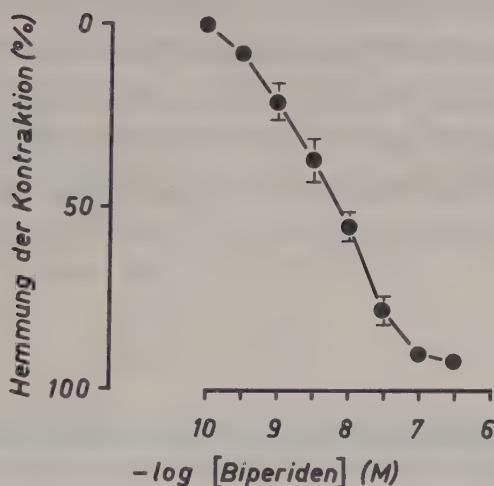


Abbildung 7 (A): Steigerung der Acetylcholinfreisetzung durch Biperiden. Längsmuskelstreifen wurden 10 Minuten mit 0,3 Hz stimuliert. Ordinate: Acetylcholinfreisetzung in Anwesenheit (S_2) und Abwesenheit (S_1) von Biperiden. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Biperidenkonzentration. Jeder Punkt zeigt den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes der angegebenen Zahl von Versuchen. Signifikanz der Differenz zu den Kontrollversuchen: x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,01$.

(B): Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch Biperiden. Ordinate: Kontraktionshemmung in % des Ausgangswertes. Abszisse: negativer dekadischer Logarithmus der molaren Biperidenkonzentration. Die Punkte stellen jeweils den Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes dar. $N = 6$.

4. Diskussion

4.1 Klassifizierung von α -Rezeptoren im adrenergen System

Das Vorhandensein von α -Rezeptoren auf der postsynaptischen Seite der neuromuskulären Synapse ist seit langem bekannt. Wesentlich neuer ist aber die Entdeckung, daß auch auf der präsynaptischen Seite α -Rezeptoren existieren, die die Transmitterfreisetzung in einem negativen Rückkopplungsmechanismus kontrollieren (Starke, 1977). Daraus ergab sich die Frage, ob sich prä- und postsynaptische α -Rezeptoren in ihren Eigenschaften unterscheiden.

4.11 Differenzierung zwischen prä- und postsynaptischen α -Rezeptoren

In einer Übersicht beschreibt Langer (1977) die bisherigen Ergebnisse zur Differenzierung zwischen prä- und postsynaptischen α -Rezeptoren. Bei Versuchen an durchspülter Katzenmilz konnten Dubocovich & Langer (1974) Unterschiede in der Wirksamkeit von Phenoxybenzamin aufzeigen. Die Substanz war auf der postsynaptischen Seite etwa 30mal stärker wirksam als auf der präsynaptischen. Dies führte zu der Annahme, daß beide

Rezeptoren nicht identisch sind. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Cubbedu et al. (1974), die eine 30 - 100fach stärkere Wirksamkeit von Phenoxybenzamin auf die postsynaptischen α -Rezeptoren feststellten. Im Gegensatz dazu fanden sie aber nur geringe Unterschiede der prä- und postsynaptischen Wirksamkeit von Phentolamin an der Katzenmilz. Borowski et al. (1977) fanden an Pulmonalarterien von Kaninchen bevorzugte präsynaptische Wirksamkeiten von Yohimbin und einer Reihe weiterer α -Adrenolytika. Mit dem Vergleich der relativen Wirksamkeiten einer großen Anzahl von α -adrenergen Agonisten konnten diese Autoren eine Differenz zwischen prä- und postsynaptischen α -Rezeptoren wahrscheinlich machen (siehe dazu: Starke, 1977).

4.2 Klassifizierung von Muscarinrezeptoren im cholinergen System

Analog zum adrenergen System wird auch im cholinergen System das Vorhandensein von präsynaptischen Muscarinrezeptoren, die die Acetylcholinfreisetzung durch einen negativen Rückkopplungsmechanismus kontrollieren, als gesichert angesehen (Kilbinger, 1977; Szerb et al., 1977). Auch hier wird versucht, herauszufinden, ob alle Rezeptoren vom selben Typ sind, oder ob sie sich in ihren Eigenschaften unterscheiden.

4.21 Differenzierung zwischen peripheren und zentralen Muscarinrezeptoren

Beld et al. (1975) untersuchten die konzentrationsabhängige Bindung von ^3H -Atropin an Trachealmuskulatur, Parotis und Nucleus caudatus vom Rind. Außerdem wurde die Atropinbindung durch zwei antimuscarinartige Substanzen gehemmt. Die Affinitätskonstanten für ^3H -Atropin waren für Parotis und Nucleus caudatus gleich, der Wert für die Trachealmuskulatur unterschied sich signifikant. Die Autoren sahen diese Differenz aber als zu gering an, um daraus auf einen Unterschied der Rezeptorqualitäten zu schließen. Sie schließen aber die Möglichkeit nicht aus, daß es mit anderen radioaktiv markierten antimuscarinartigen Substanzen gelingen kann, größere Unterschiede in den Affinitätskonstanten nachzuweisen und damit Hinweise auf unterschiedliche Rezeptoreigenschaften zu gewinnen.

Zu demselben Schluß kamen Barlow et al. bereits 1972. Sie verglichen die Affinitätskonstanten von Muscarinantagonisten in Ileum, Bronchialmuskulatur und Iris von Meerschweinchen und konnten nur geringe Differenzen feststellen, die sie aber mit den unterschiedlichen Versuchsbedingungen erklärten.

Sayers & Bürki (1976) finden ebenfalls keine Differenzen zwischen den Muscarinrezeptoren im Rattenhirn, die sie mit der

Methode der spezifischen ^3H -QNB-Bindung (definiert als totale Bindung minus die Bindung in Gegenwart von 10^{-4} M Oxotremorin) nachweisen, und den Muscarinrezeptoren im Meerschweinchenileum, die sie durch Messung der durch eine AcetylcholinKonzentration von $0,01 \mu\text{g/ml}$ ausgelösten Kontraktion darstellen. Sie finden eine Korrelation zwischen den Wirkungen (IC 50-Werte, bestimmt in Bindungsversuchen und IC 90-Werte, bestimmt in Kontraktionsversuchen) der von ihnen untersuchten Parasympatholytika in beiden Modellen, was die Übereinstimmung der Rezeptorqualitäten andeutet. Fjalland et al. (1977) finden in ihrer Untersuchung ebenfalls eine Übereinstimmung der Einflüsse der von ihnen untersuchten Psychopharmaka auf die zentralen Muscarinrezeptoren, dargestellt durch die Verdrängung der spezifischen ^3H -PrBCM-Bindung (definiert als totale Bindung minus die Bindung in Gegenwart von 2×10^{-5} M Atropin) am Rattenhirn, und auf die peripheren Muscarinrezeptoren, dargestellt durch Registrierung der durch $2,2 \times 10^{-7}$ M Acetylcholin ausgelösten Kontraktion des Meerschweinchenileums. Damit finden die Autoren die von Barlow et al. (1972), und Beld et al. (1975) gemachten Beobachtungen bestätigt, die auch zu dem Schluß gekommen waren, daß die Muscarinrezeptoren in zentralen und peripheren Geweben gleiche Eigenschaften besitzen.

Fozard und Muscholl (1972) untersuchten die prä- und postsynaptischen Wirksamkeiten (Hemmung der Noradrenalinfreisetzung bzw. Hemmung der Vorhofkontraktion und Kammerfrequenz) mehrerer muscarinartiger Agonisten am isoliert perfundierten Kaninchenherzen. Diese Autoren fanden keinen Unterschied in der Reihen-

folge der Wirksamkeiten für prä- und postsynaptische Effekte und schlossen daher, daß die Muscarinrezeptoren am sympathischen Nervenende gleiche pharmakologische Eigenschaften haben wie diejenigen am Erfolgsorgan.

4.22 Differenzierung von Muscarinrezeptoren im Meerschweinchenileum

Burgen & Spero (1968) haben den Einfluß einer Reihe von Parasympathomimetika auf den Efflux von K^+ und auf die Kontraktion der glatten Muskulatur am Meerschweinchenileum untersucht. Dabei fanden die Autoren eine unterschiedliche Reihenfolge der Wirksamkeiten der Agonisten auf beide Reizantworten. Das würde bedeuten, daß es sich bei den vermittelnden Rezeptoren um verschiedene handelt. Dann wäre allerdings auch zu erwarten, daß die Rezeptoren auf eine Reihe von Antagonisten unterschiedlich reagieren. Eine Differenz konnte aber nur für Benzhexol (= Trihexyphenidyl) nachgewiesen werden, das 8,5mal stärker auf den K^+ -Flux als auf die Kontraktion wirkte. Die Autoren sahen sich außerstande, bei dieser einen Ausnahme, auf eine Differenz der Rezeptoren in ihrem Verhalten gegenüber Antagonisten zu schließen. Sie vermuten eher, daß es zwei Subtypen von Muscarinrezeptoren gibt, die sich in ihrer Wirkung auf Agonisten unterscheiden, in ihrer Wirkung auf Antagonisten aber bis auf die Ausnahme von Benzhexol nicht differieren.

4.23 Differenzierung zwischen prä- und postsynaptischen Muscarinrezeptoren

Kilbinger (1977) hat die Wirkung von Oxotremorin und Atropin als Muscarinagonist bzw. -antagonist auf die Acetylcholinfreisetzung am Meerschweinchenileum und damit auf präsynaptische Muscarinrezeptoren untersucht. Dabei fand er einen pA_2 -Wert für Atropin gegen Oxotremorin von 8,8. Dieser Wert war niedriger als der pA_2 -Wert, den Cox & Hecker (1971) für Atropin gegen Oxotremorin (9,4) und Kilbinger et al. (1976) für Atropin gegen Acetylcholin (9,4) am glatten Muskel des Meerschweinchendünndarmes, also in der Wirkung auf die postsynaptischen Muscarinrezeptoren, bestimmt hatten. Daraus schließt er aber nicht auf einen Unterschied zwischen den Muscarinrezeptoren, da bei der letzten Arbeit die Bedingungen für eine genaue Bestimmung des pA_2 -Wertes nicht optimal waren.

Szerb et al. (1977) untersuchten am Rattenhirn den Einfluß von Agonisten und Antagonisten auf die präsynaptischen Muscarinrezeptoren durch Bestimmung der 3H -Acetylcholinfreisetzung aus hippocampalen Strukturen. Sie verglichen diese Ergebnisse mit denen, die Yamamura & Snyder (1974) an postsynaptischen Rezeptoren im Hippocampus durch Verdrängung der spezifischen 3H -QNB-Bindung gemessen hatten. Szerb et al. fanden eine Differenz in beiden Systemen in Bezug auf die Wirkung gegenüber Antagonisten, die etwa 10mal schwächer an den präsynap-

tischen Rezeptoren wirkten, verglichen mit ihrer Wirkung auf die Verdrängung der spezifischen ^3H -QNB-Bindung, während die Agonisten in beiden Systemen gleich wirksam waren.

4.3 Vergleich der prä- und postsynaptischen Wirksamkeiten der getesteten Antimuscarinika

Bei den benutzten Parasympatholytika handelt es sich um Substanzen mit unterschiedlicher chemischer Struktur. So ist bei Methylatropin durch die Methylierung am Stickstoffatom die Permeabilität durch biologische Membranen herabgesetzt. Das deutet darauf hin, daß die hier untersuchten Muscarinrezeptoren auf der Außenseite der Neuronenmembran lokalisiert sind.

Die therapeutischen Indikationen sind ebenfalls unterschiedlich. So sind z.B. Trihexyphenidyl und Biperiden als Antiparkinsonmittel bekannt, während Amitriptylin ein tricyclisches Antidepressivum ist. Clozapin fand als Neuroleptikum Verwendung.

Die konzentrationsabhängige Steigerung der Acetylcholinfreisetzung, die mit allen Substanzen gemessen wurde, stimmt mit früheren Ergebnissen am Meerschweinchenileum (Kilbinger, 1977) und zerebralen Strukturen der Ratte (Szerb et al., 1977;

Molenaar & Polak, 1970) überein. Dies bestätigt erneut die These der Existenz des negativen Rückkopplungsmechanismus der Transmitterfreisetzung auch im cholinergen System.

Die festgestellte konzentrationsabhängige Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen durch die Muscarinantagonisten stützt ebenfalls Schlußfolgerungen früherer Untersuchungen (Fjalland et al., 1977; Sayers & Bürki, 1976).

Die Werte der Ruhefreisetzung waren in allen Versuchsreihen relativ konstant. Als niedrigster Wert wurden $200 \pm 28 \text{ pmol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ gemessen, der höchste Wert lag bei $280 \pm 22 \text{ pmol} \times \text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ (Vergleich: Tabelle 3A - 7A).

Die Ruhefreisetzung von Acetylcholin wurde durch die einzelnen Substanzen kaum beeinflusst. Eine signifikante Steigerung der Ruhefreisetzung ($p < 0,01$) war nur bei Konzentrationen von $3 \times 10^{-6} \text{ M}$ Scopolamin festzustellen. Dies ließe sich durch Blockade der präsynaptischen inhibitorischen Muscarinrezeptoren erklären. Es könnte sich allerdings bei dieser hohen Konzentration schon um unspezifische lokalanästhetische Nebeneffekte handeln, denn bei 10^{-5} M Biperiden sowie 10^{-5} M bzw. $3 \times 10^{-5} \text{ M}$ Amitriptylin wurde ein Rückgang der Ruhefreisetzung beobachtet. Diese Änderungen waren aber ebenso wie die Steigerung der Ruhefreisetzung durch 10^{-5} M Scopolamin nicht signifikant ($p > 0,05$).

Die Werte der maximalen Steigerung der Transmitterfreisetzung wurden bei Konzentrationen von 10^{-5} M (Trihexyphenidyl und Amitriptylin), 10^{-6} M (Methylatropin, Scopolamin, Biperiden und Clozapin) und 10^{-7} M (QNB) erreicht (Vergleich dazu: Abbildung 1 - 7).

Die Freisetzungssteigerung ging mit höheren Konzentrationen der Muscarinantagonisten wieder zurück. Gleiche Beobachtungen finden sich bei Kilbinger (1977), der in seiner Arbeit Atropin untersucht hatte.

Für die präsynaptischen Wirkungen der antimuscarinischen Substanzen läßt sich die Reihenfolge der relativen Wirksamkeiten wie folgt feststellen: QNB > Methylatropin > Scopolamin > Biperiden > Clozapin > Trihexyphenidyl > Amitriptylin.

Szerb et al. (1977) verwandten ebenfalls QNB und Scopolamin zur Klassifizierung von präsynaptischen Muscarinrezeptoren. Diese Autoren haben in ihrer Arbeit für Scopolamin und QNB keinen großen Unterschied in der Wirksamkeit auf die Acetylcholinfreisetzung aus Rattenhirn gefunden. QNB war etwa 13mal stärker wirksam ($ED_{50} = 8,3 \times 10^{-9}$ M) als Scopolamin ($ED_{50} = 1,1 \times 10^{-8}$ M). Das stimmt mit den von uns gemessenen Werten insoweit überein, als auch hier QNB mit einer ED_{50} von $7,5 \times 10^{-9}$ M auf der präsynaptischen Seite etwa 9mal (relative Wirksamkeit = 1 : 0,106) wirksamer war als Scopolamin ($ED_{50} = 7,07 \times 10^{-8}$).

Die Reihenfolge der relativen Wirksamkeiten der Muscarinantagonisten auf der postsynaptischen Seite ist die folgende:

QNB > Methylatropin > Scopolamin > Biperiden > Trihexyphenidyl > Amitriptylin > Clozapin (siehe dazu: Tabelle 10).

Eine Reihe der hier benutzten Substanzen wurden in früheren Studien schon zur Klassifizierung von Muscarinrezeptoren herangezogen.

Fjalland et al., (1977) untersuchten an zwei in-vitro und zwei in-vivo Modellen die Affinität zu Muscarinrezeptoren von 5 Anticholinergika und 27 Psychopharmaka. Dabei dienten ihnen Kontraktionsversuche am Meerschweinchenileumpräparat zur Darstellung der peripheren postsynaptischen Rezeptoren. Die Absolutwerte, die dabei gemessen wurden, lassen sich, aufgrund der unterschiedlichen Versuchsbedingungen, nicht auf die Werte der hier vorliegenden Arbeit übertragen, aber die Reihenfolge der Wirksamkeiten der Substanzen stimmt mit der von uns an den postsynaptischen Muscarinrezeptoren des Meerschweinchenileums festgestellten Reihenfolge überein (Scopolamin > Trihexyphenidyl > Amitriptylin > Clozapin).

Von Sayers & Bürki (1976) wurden ebenfalls die Wirkungen von psychoaktiven Substanzen u.a. an postsynaptischen Muscarinrezeptoren des Meerschweinchenileums untersucht. Auch hier waren die Versuchsbedingungen unterschiedlich, so daß sich

Tabelle 10: Prä- und postsynaptische Wirkungen von antimuscarinartigen Substanzen

Substanz	Freisetzungssteigerung		Kontraktionshemmung		$\frac{ED_{50} \text{ prä}}{ED_{50} \text{ post}}$
	ED_{50} (M)	Relative Wirksamkeit	ED_{50} (M)	Relative Wirksamkeit	
QNB	$7,50 \times 10^{-9}$	1	$3,29 \pm 0,90 \times 10^{-10}$	1	23
Methylatropin	$5,30 \times 10^{-8}$	0,141	$4,37 \pm 0,56 \times 10^{-10}$	0,753	121
Scopolamin	$7,08 \times 10^{-8}$	0,106	$9,28 \pm 0,93 \times 10^{-10}$	0,354	76
Biperiden	$7,94 \times 10^{-8}$	0,094	$6,04 \pm 1,02 \times 10^{-9}$	0,055	13
Trihexyphenidyl	$2,51 \times 10^{-7}$	0,029	$4,53 \pm 0,21 \times 10^{-8}$	0,007	6
Amitriptylin	$8,91 \times 10^{-7}$	0,008	$5,61 \pm 0,34 \times 10^{-8}$	0,006	16
Clozapin	$1,68 \times 10^{-7}$	0,045	$5,75 \pm 0,36 \times 10^{-8}$	0,006	3

nur sagen läßt, daß Clozapin und Amitriptylin in etwa gleich wirksam waren, was wiederum mit der von uns gemessenen Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen übereinstimmt (ED_{50} für Clozapin = $5,75 \pm 0,36 \times 10^{-8}$ M; für Amitriptylin = $5,61 \pm 0,34 \times 10^{-8}$ M).

Aquilonius (1977) hat in einer Untersuchung über die Behandlung von Überdosierungserscheinungen atropinartiger Substanzen mit Physostigmin die relativen Affinitäten für postsynaptische Muscarinrezeptoren einiger Psychopharmaka untersucht. Die Reihenfolge der Wirksamkeiten (Scopolamin > Trihexyphenidyl > Amitriptylin > Clozapin) stimmt mit der von uns festgestellten überein.

Vergleicht man die in der vorliegenden Arbeit gefundenen prä- und postsynaptischen Wirksamkeiten, so ersieht man, daß Clozapin eine Ausnahme bildet, was die Wirkung auf die Acetylcholinfreisetzung anbetrifft. Das zeigt sich auch deutlich darin, daß alle Substanzen eine maximale Steigerung der Acetylcholinfreisetzung auf das etwa 6fache des Ausgangswertes bewirken ($5,55 \pm 0,97 \leq S_2/S_1 \leq 6,61 \pm 1,19$), während Clozapin die Transmitterfreisetzung nur auf einen Wert von $S_2/S_1 = 2,93 \pm 0,35$ erhöhte. Das bedeutet, daß die Steigung der Konzentrations-Freisetzungskurve von Clozapin geringer ist und somit die Bestimmung der ED_{50} mit größeren methodischen Fehlern behaftet ist.

Vergleicht man die Einzelwerte der relativen Wirksamkeiten miteinander, so ergeben sich jedoch deutliche Unterschiede (siehe dazu Tabelle 10). So sind z.B. QNB und Methyлатropin postsynaptisch etwa gleich wirksam, auf der präsynaptischen Seite dagegen ist QNB etwa siebenmal wirksamer. Um diese Unterschiede zwischen den prä- und postsynaptischen Wirksamkeiten zu veranschaulichen, wurde der Quotient $ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}}$ gebildet. Damit lassen sich die Substanzen in drei Gruppen einteilen mit jeweils etwa gleichen Werten für $ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}}$. Zu der ersten Gruppe mit am stärksten ausgeprägter postsynaptischer Wirksamkeit zählen Methyлатropin ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 121$) und Scopolamin ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 76$). Eine Mittelstellung nehmen QNB ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 23$), Amitriptylin ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 16$) und Biperiden ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 13$) ein. Die Substanzen mit dem geringsten Unterschied zwischen prä- und postsynaptischer Wirksamkeit sind Trihexyphenidyl ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 6$) und Clozapin ($ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}} = 3$).

Der ermittelte Wert für die $ED_{50\text{prä}}/ED_{50\text{post}}$ ist für alle Substanzen größer als 1. Das hat zum Teil methodische Gründe.

Die postsynaptischen Effekte, die als Einzelzuckung des Muskels bei einer Frequenz von 0,1 Hz registriert wurden, waren nur meßbar in Abwesenheit von Eserin. Die Gegenwart von

10^{-5} M Eserin verursachte starke Spontankontraktionen des Präparates (unveröffentlichte Beobachtungen). Die präsynaptischen Effekte, die in der Steigerung der Acetylcholinfreisetzung aus den Längsmuskelstreifen bestanden, waren nur meßbar bei Hemmung der Acetylcholinesterase durch 10^{-5} M Eserin. Außerdem wurde in dieser Versuchsreihe mit 0,3 Hz gereizt, um genügend Acetylcholin freizusetzen.

Wahrscheinlich waren deshalb für die präsynaptischen Wirkungen höhere Konzentrationen der antimuscarinartigen Substanzen erforderlich, da erst die Wirkung des in Anwesenheit von Eserin akkumulierten Acetylcholins überwunden werden muß. Darüber hinaus ist denkbar, daß präsynaptische Muscarinrezeptoren eine geringere Affinität zu Antagonisten haben als postsynaptische Muscarinrezeptoren. (Szerb et al., 1977)

Die Versuche zeigen deutliche Unterschiede der Muscarinantagonisten in ihrer Wirkung auf die präsynaptischen Muscarinrezeptoren, dargestellt durch die Steigerung der Acetylcholinfreisetzung, und auf die postsynaptischen Muscarinrezeptoren, dargestellt durch die Hemmung der Kontraktion der Längsmuskelstreifen. Aus diesen Beobachtungen wird geschlossen, daß die prä- und postsynaptischen Muscarinrezeptoren im Meerschweinchenileum unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften haben.

5. Zusammenfassung

Es wurden die Wirkungen von sieben antimuscarinartigen Substanzen (Scopolamin, Trihexyphenidyl, Amitriptylin, Clozapin, QNB, Methylatropin, Biperiden) auf prä- und postsynaptische Muscarinrezeptoren des Meerschweinchendünndarmes miteinander verglichen.

1. Die Wirkung auf die präsynaptischen Muscarinrezeptoren wurde durch Messung der Acetylcholinfreisetzung untersucht. Dazu wurden Längsmuskelstreifen mit anhaftendem Auerbachschen Plexus in Tyrodelösung inkubiert, der 10^{-5} M Eserin zugesetzt war. Die Längsmuskelstreifen wurden für jeweils 10 Minuten mit 0,3 Hz elektrisch gereizt. Die Acetylcholinfreisetzung wurde als Verhältnis der Freisetzung in Gegenwart (S_2) bzw. Abwesenheit (S_1) der Testsubstanz in der Badflüssigkeit ausgedrückt (S_2/S_1). Die sieben untersuchten muscarinartigen Antagonisten steigerten konzentrationsabhängig die Acetylcholinfreisetzung. Die Reihenfolge der Wirksamkeiten war $QNB > \text{Methylatropin} > \text{Scopolamin} > \text{Biperiden} > \text{Clozapin} > \text{Trihexyphenidyl} > \text{Amitriptylin}$.

2. Um den Einfluß der Substanzen auf die postsynaptischen Muscarinrezeptoren zu untersuchen, wurde die Kontraktion der

Längsmuskelstreifen gemessen. Die Muskelstreifen wurden in Tyrodelösung inkubiert und kontinuierlich mit 0,1 Hz elektrisch gereizt. Die untersuchten antimuscarinartigen Substanzen führten in konzentrationsabhängiger Weise zu einer Hemmung der Kontraktion der Muskelstreifen. Die Reihenfolge der Wirksamkeiten war QNB > Methylatropin > Scopolamin > Biperiden > Trihexyphenidyl > Amitriptylin > Clozapin.

3. Die Untersuchungen zeigen, daß die Reihenfolge der Wirksamkeiten der antimuscarinartigen Substanzen für prä- und postsynaptische Effekte unterschiedlich ist.

Als Maß für die prä- und postsynaptische Wirksamkeit wurde für jeden Antagonisten das Verhältnis ED_{50} präsynaptisch : ED_{50} postsynaptisch errechnet. Danach lassen sich die 7 antimuscarinartigen Substanzen in 3 Gruppen einteilen:

- Methylatropin und Scopolamin haben die höchsten Werte (Quotient: 121 bzw. 76) und damit eine bevorzugte postsynaptische Wirkung.
- QNB, Amitriptylin und Biperiden (Quotient: 23, 16, 13) nehmen eine Mittelstellung ein.
- Für Trihexyphenidyl und Clozapin (Quotient: 6 bzw. 3) war der Unterschied zwischen prä- und postsynaptischer Wirksamkeit am geringsten.

Aus diesen Ergebnissen läßt sich auf unterschiedliche pharmakologische Eigenschaften der prä- und postsynaptischen Muscarinrezeptoren am Meerschweinchenileum schließen.

6. Literatur

AQUILONIUS, S.M.:

Physostigmine in the treatment of drug overdose. Cholinergic Mechanisms and Psychopharmacology, Ed. D.J. Jenden, Plenum Press, New York and London, 817-825, 1977

BARLOW, R.B., FRANKS, F.M., PEARSON, J.D.M.:

A comparison of the affinities of antagonists for acetylcholine receptors in the ileum, bronchial muscle and iris of the guinea-pig. Br.J.Pharmacol. 46, 300, 1972

BELD, A.J., VAN DEN HOVEN, S., WOUTERSE, A.C., ZEGERS, M.A.P.:

Are muscarinic receptors in the central and peripheral nervous system different ? Europ. J. Pharmacol. 30, 360-363, 1975

BOROWSKI, E., STARKE, K., EHRL, H., ENDO, T.:

A comparison of pre- and postsynaptic effects of α -adrenolytic drugs in the pulmonary artery of the rabbit, Neuroscience 2, 285-296, 1977

BOURDOIS, P.S., MITCHEL, J.F., SOMOGYI, G.T., SZERB, J.C.:

The output per stimulus of acetylcholine from cerebral cortical slices in the presence or absence of cholinesterase inhibition. Br. J. Pharmacol. 52, 509-517, 1974

BURGEN, A.S.V., SPERO, L.:

The action of acetylcholine and other drugs on the efflux of potassium and rubidium from smooth muscle of the guinea-pig intestine. Br. J. Pharmacol, 34, 99-115, 1968

COX, B., HECKER, S.E.:

Investigation of the mechanism of action of oxotremorine on the guinea-pig isolated ileum preparation. Br. J. Pharmacol. 41, 19-25, 1971

CUBBEDU, L.X., BARNES, E.M., LANGER, S.Z., WEINER, N.:

Release of norepinephrine and dopamine- β -hydroxylase by nerve stimulation. I. Role of neuronal and extraneuronal uptake and of alpha presynaptic receptors. J. Pharmac. exp. Ther. 190, 431-450, 1974

DUBOCOVICH, M.L., LANGER, S.Z.:

Negative feed-back regulation of noradrenaline release by nerve stimulation in the perfused cat's spleen: differences in potency of phenoxybenzamine in blocking the pre- and postsynaptic adrenergic receptors. J. Physiol, Lond. 237, 505-519, 1974

FARNEBO, L.-O., HAMBERGER, B.:

Drug-induced changes in the release of ^3H -noradrenaline from field stimulated rat iris. Br. J. Pharmacol. 43, 97-106, 1971

FJALLAND, B., CHRISTENSEN, A.B., HYTTEL, J.:

Peripheral and central muscarinic receptor affinity of psychotropic drugs. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 301, 5-9, 1977

FOZARD, J.R., MUSCHOLL, E.:

Effects of several muscarinic agonists on cardiac performance and the release of noradrenaline from sympathetic nerves of the perfused rabbit heart, Br. J. Pharmacol. 45, 616-629, 1972

FURCHTGOTT, R.F.:

The classification of adrenoceptors (adrenergic receptors). An evaluation from the standpoint of receptor theory. In: Handbook of experimental pharmacology, 33, 283-335, Berlin - Heidelberg - New York, Springer, 1972

KARLEN, B., LUNDGREN, G., NORDGREN, I., HOLMSTEDT, B.:

Ion-pair extraction and gas-phase analysis of acetylcholine and choline. In: Choline and acetylcholine: Handbook of chemical assay methods, Hrsg. Hanin, I., 163-179, New York: Raven Press 1974

KILBINGER, H.:

Gas chromatographic estimation of acetylcholine in the rabbit heart using a nitrogen selective detector. J. Neurochem. 21, 421-429, 1973

KILBINGER, H.:

Modulation by oxotremorine and atropine of acetylcholine release evoked by electrical stimulation of the myenteric plexus of the guinea-pig ileum. Naunyn - Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 300, 145-151, 1977

KILBINGER, H., WAGNER, A., ZERBAN, R.:

Some pharmacological properties of the false cholinergic transmitter acetylpyrrolidinescholine and its precursor pyrrolidinecholine. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 295, 81-87, 1976

KIRPEKAR, S.M., PUIG, M.:

Effect of flow-stop on noradrenaline release from normal spleens and spleens treated with cocaine, phentolamine or phenoxybenzamine. Br. J. Pharmacol. 43, 359-369, 1971

LANGER, S.Z.:

Presynaptic receptors and their role in the regulation of transmitter release. Br. J. Pharmacol. 60, 481-497, 1977

LANGER, S.Z., ADLER, E., ENERO, M.A., STEFANO, F.J.E.:

The role of the α -receptor in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. XXVth International Congress of Physiological Sciences, 335, München, 1971

MOLENAAR, P.C., POLAK, R.L.:

Stimulation by atropine of acetylcholine release and synthesis in cortical slices from rat brain. Br. J. Pharmacol. 40, 406-417, 1970

PATIL, P.N.:

A use of the isomeric ratio as a criterion to differentiate adrenergic receptors. J. Pharm. Pharmacol. 21, 628-629, 1969

PATON, W.D.M., VIZI, E.S.:

The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea-pig ileum longitudinal muscle strip. Br. J. Pharmacol. 35, 10-28, 1969

POLAK, R.L.:

Stimulating action of atropine on the release of acetylcholine by rat cerebral cortex in vitro, Br. J. Pharmacol. 41, 600-606, 1971

SAYERS, A.C., BÜRKI, H.R.:

Antiacetylcholine activities of psychoactive drugs: a comparison of the ³H-quinuclidinylbenzilate binding assay with conventional methods. J. Pharm. Pharmacol. 28, 252-253, 1976

STARKE, K.:

Influence of α -receptor stimulants on noradrenaline release. Naturwissenschaften 58, 420, 1971

STARKE, K.:

Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 77, 45-65, 1977

SZERB, J.C., SOMOGYI, G.T.:

Depression of acetylcholine release from cerebral cortical slices by cholinesterase inhibition and by oxotremorine. Nature New Biol. 241, 121-122, 1973

SZERB, J.C., HADHÁZY, P., DUDAR, J.D.:

Release of ³H-acetylcholine from rat hippocampal slices. Effect of septal lesion and of graded concentrations of muscarinic agonists and antagonists. Brain Research 128, 285-291, 1977

YAMAMURA, H.I., SNYDER, S.H.:

Muscarinic cholinergic binding in rat brain. Proc. Nat. Acad. Sci. 71, 1725-1729, 1974

LEBENS LAUF

Ich wurde am 16.3.1955 als zweites Kind des Hans-Theo Wagner und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Schalla, in Kassel geboren.

Am 13.4.1961 wurde ich in die Schule am Wall, Volksschule in Kassel, aufgenommen. Nach dem 4. Schuljahr besuchte ich ab Ostern 1965 die Goetheschule, Gymnasium in Kassel. Diese verließ ich im Juni 1973 nach der Reifeprüfung.

Im Sommer 1973 leistete ich mein zweimonatiges Krankenpflegepraktikum am Roten Kreuz Krankenhaus in Kassel ab und begann zum Wintersemester 1973/74 mein Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz.

Im März 1976 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung. Den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung legte ich im März 1977 ab, den zweiten Abschnitt im März 1979.

Seit dem 17.4.1979 bin ich nun am Städtischen Krankenhaus Kemperhof in Koblenz als Studentin im Praktischen Jahr tätig.

